

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**

**Departamento de Nutrição**

**Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos**



**Dissertação**

**Prevalência de sobrepeso e obesidade e sua associação com polimorfismos  
em escolares**

**Patrícia de Britto Costa**

Pelotas, 2017

**Patrícia de Britto Costa**

**Prevalência de sobrepeso e obesidade e sua associação com polimorfismos  
em escolares**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da  
Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à  
obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Carlos Castilhos de Barros

Co orientadores: Prof<sup>a</sup>. Fabiana Torma Botelho

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

C837p Costa, Patrícia de Britto

Prevalência de sobrepeso e obesidade e sua associação com polimorfismos em escolares / Patrícia de Britto Costa ; Carlos Castilhos de Barros, Fabiana Botelho, orientadores. — Pelotas, 2017.

36 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Avaliação nutricional. 2. Polimorfismos genéticos. 3. Obesidade. 4. Distribuição alélica. I. Barros, Carlos Castilhos de, orient. II. Botelho, Fabiana, orient. III. Título.

CDD : 641.1

Pelotas, 2017

**Patrícia de Britto Costa**

Prevalência de sobrepeso e obesidade e sua associação com polimorfismos em escolares

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de mestre em Nutrição, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 20/02/2016

Banca examinadora:

.....

Prof Dr Carlos Castilhos de Barros

Doutor em Biotecnologia pela Universidade de Mogi das Cruzes

.....

Prof Dra Fabiana Torma Botelho

Doutora em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas

.....

Prof Dra Simone Pieniz

Doutora em Microbiologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dedico este trabalho aos meus filhos,  
Maria Carolina e Antônio, que são a razão e alegria da minha vida.

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente à Deus, por me dar saúde, força e coragem para enfrentar este mestrado que para mim foi um desafio.

À minha família, meus filhos Maria Carolina e Antônio por serem minha alegria e meu estímulo em todos os momentos, ao meu marido Guilherme pelo companheirismo e por sempre acreditar na minha capacidade, não medindo esforços para me ajudar.

Aos meus pais, Ana Beatriz e David, pelo incentivo à não desistir do meu objetivo, e à minha irmã pelo apoio sempre que preciso.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr Carlos Castilhos de Barros, pela orientação, pela oportunidade e por acreditar no meu trabalho.

À Prof. Dra Fabiana Torma Botelho pela disponibilidade em me auxiliar sempre que precisei, além da amizade durante esse período do mestrado.

Aos alunos, aos pais, comunidade escolar do município de Arroio Grande, que tão bem me recebeu.

À todos os professores da Faculdade de Nutrição e do Programa de Pós Graduação da Universidade Federal de Pelotas por todos conhecimento que me proporcionaram ao longo da minha formação.

À Universidade Federal de Pelotas, ao Programa de Pós Graduação em Nutrição e Alimentos, obrigada pelo espaço e recursos disponibilizados.

Aos estagiários e bolsistas que em algum momento compartilharam desse trabalho comigo, em especial a Evelise, Itiane e Poliana.

A nossa ex-secretária Eliane, pelo apoio burocrático e carinho com que sempre me tratou.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

“Nunca saberemos o quão forte somos

até que ser forte seja a única escolha.”

## Resumo

COSTA, Patricia. **Prevalência de sobrepeso e obesidade e sua associação com polimorfismos em escolares**. 2017. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

O estado nutricional está diretamente ligado à saúde da criança, influenciando no seu processo de crescimento e desenvolvimento. O estudo teve por objetivo investigar o estado nutricional e identificar a existência da associação com os polimorfismos R577X da ACTN3 e ECA I/D, em escolares do ensino da rede pública e privada. É um estudo com delineamento transversal no período de novembro de 2015 a julho de 2016. Foram incluídos no estudo todos os escolares matriculados e que estavam frequentando regularmente as aulas. Para a coleta dos dados foi realizada avaliação antropométrica por meio das medidas de peso e estatura. Posteriormente, os dados foram analisados através da utilização do programa Stata 13.0. Após a avaliação dos dados pode-se observar os seguintes resultados, em relação ao estado nutricional observa-se que apenas 0,2% (n=1) foram classificados com magreza e 57,8% como eutróficos, enquanto que 16,5% (n=76) e 23,7% (n=109) foram classificados com sobrepeso e obesidade, respectivamente. Em relação ao polimorfismo da ECA, encontrou-se 223 indivíduos DD (52,5%), 131 ID (30,8%) e 71 II (16,70). A prevalência do alelo D foi de 68% e do alelo I foi de 32%. Quanto ao polimorfismo da ACTN3 observou-se 155 indivíduos RR (38,8%), 161 RX (40,25%) e 84 XX (21%). A prevalência do alelo R de 59% e do alelo X foi de 41%. Não foi encontrada associação entre o estado nutricional das crianças e os polimorfismos estudados. Os dois genes apresentaram estarem em desequilíbrio de distribuição quanto a Hardy-Weinberg na amostra, o que deverá ser estudado para verificar se este desequilíbrio também reflete a população adulta de Arroio Grande.

Palavras chave: Obesidade; polimorfismos genéticos; avaliação nutricional; distribuição alélica.



## Abstract

The nutritional status is directed to the health of the child, influencing its process of growth and development. The objective of the study was to investigate the nutritional status and to identify the existence of the association with ACTN3 (R577X) and ECA I / D gene polymorphisms in public and private school students. It is a study with a cross-sectional design from November 2015 to July 2016. All the studies enrolled in school are included and are frequently considered as classes. To collect the data on an anthropometric evaluation by means of measures of weight and height. Subsequently, the data were analyzed for the use of the Stata 13.0 program. After an evaluation of the results, the following results can be observed regarding nutritional status, observing that only 0.6% (n = 1) were evaluated with 57.8% as eutrophic, while 16.5% (N = 76) and 23.7% (n = 109) were overweight and obese. Regarding the RCT polymorphism, 223 individuals were found to be DD (52.5%), 131 ID (30.8%) and 71 II (16.70). The prevalence of the D allele was 68% and the I allele was 32%. Regarding the ACTN3 polymorphism, 155 RR (38.8%), 161 RX (40.25%) and 84 XX (21%) individuals were observed. The prevalence of the 59% R allele and the X allele was 41%. No association was found between the nutritional status of the children and the polymorphisms studied. The two genes show a balance of distribution disequilibrium for Hardy-Weinberg in the sample, which should be studied to verify if this imbalance also reflects an adult population of Arroio Grande.

**Key words:** Obesity, genetic polymorphisms, nutritional assessment, allelic distribution

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1:</b>	Distribuição de escolares segundo peso, idade, altura e IMC. Arroio Grande, 2016.....	23
<b>Tabela 2:</b>	Distribuição do estado nutricional dos escolares, segundo sexo.....	24
<b>Tabela 3:</b>	Comparação entre o consumo alimentar e avaliação nutricional.....	25
<b>Tabela 4:</b>	Distribuição genotípica e equilíbrio de Hardy-Weinberg .....	26
<b>Tabela 5:</b>	Análise perfil genético (metabolismo glicolítico vs. oxidativo).....	27
<b>Tabela 6:</b>	Análises Efeitos-Misturados na Regressão-Linear Multivariada.....	28
<b>Tabela 7:</b>	Análises qui-quadrado com dados categorizados.....	28

### **Lista de abreviaturas**

ANG I = Angiotensina I

ANG II = Angiotensina II

DNA = Ácido desoxirribonucléico

DP = Desvio padrão

E/I = Estatura para idade

ECA = Enzima conversora de Angiotensina

IBGE = Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IMC = Índice de massa corporal

NCHS = Centro Nacional de Estatística de Saúde

OMS = Organização Mundial da Saúde

P/E =Peso para estatura

P/I =Peso para idade

PA = Pressão Arterial

PCR = Reação em Cadeia da Polimerase

POF = Pesquisa de Orçamento Familiar

QFA = Questionário de Frequência Alimentar

SISVAN = Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional

TCLE = Termo de consentimento livre e esclarecido

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO .....	12
REVISÃO .....	14
Obesidade .....	14
Obesidade Infantil .....	14
Fatores genéticos da obesidade .....	16
Polimorfismos genéticos .....	16
Polimorfismo I/D do gene da ECA .....	17
Polimorfismo R577X do gene ACTN3 .....	17
OBJETIVOS .....	18
MÉTODOS .....	18
Delineamento .....	18
Seleção da Amostra .....	19
Critérios de Inclusão .....	19
Critérios de Exclusão .....	19
Coleta de Dados .....	19
Avaliação Antropométrica .....	20
Dados sócio demográficos e avaliação de frequência alimentar .....	20
Coleta de material biológico para a extração do DNA genômico .....	21
Extração do DNA genômico .....	21
Análise Estatística .....	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	22
CONCLUSÃO .....	30
REFERÊNCIAS.....	31

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a obesidade tornou-se um grande problema de saúde pública em países de todo o mundo, tornando-se um dos maiores fatores de risco para as doenças crônico degenerativas. No Brasil, pesquisas de base populacional vêm mostrando o aumento na prevalência de excesso de peso e obesidade em todos os estratos da população<sup>1,2</sup>.

Segundo a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) publicada em 2010, o aumento crescente na prevalência do sobrepeso e da obesidade foi também evidenciado em crianças, visto que em torno de 30% das crianças entre 5-9 anos estavam acima do peso<sup>2</sup>.

Dados de um estudo sobre o estado nutricional de 23.647 crianças de seis a dezessete anos, realizado em 99 escolas da cidade de Pelotas (37 municipais, 42 estaduais e 20 particulares) indicam que o maior índice de obesidade foi encontrado em crianças de escolas particulares (13,5%). Nas escolas estaduais, o índice de sobrepeso foi de 11,4% e nas municipais foi de 10,0% entre os escolares, sendo que a prevalência de obesidade foi maior nas meninas (11,1%) do que nos meninos (10,9%)<sup>3</sup>.

O interesse na prevenção da obesidade infantil se justifica pelo aumento de sua prevalência com permanência na vida adulta, pela potencialidade enquanto fator de risco para as doenças crônico-degenerativas e mais recentemente pelo aparecimento de doenças como o diabetes mellitus tipo II em adolescentes obesos, antes predominante em adultos. Além disso, frequentes intervenções em crianças, principalmente antes dos 10 anos de idade ou na adolescência, diminuem a severidade do diabetes do que as mesmas intervenções na idade adulta<sup>4</sup>.

O aumento da prevalência da obesidade infantil tem sido associado a existência de predisposição ou suscetibilidade genética como fatores condicionantes para a obesidade, sobre a qual atuam os fatores ambientais relacionados ao estilo de vida.

Tais fatores envolvem hábitos alimentares inadequados e falta de atividade física, além de compulsão alimentar, excesso de mídias eletrônicas, tais como muito tempo assistindo televisão e participando de jogos na internet, o que reduz consequentemente a queima de energia consumida <sup>5</sup>.

Diversos genes têm sido associados à obesidade, entre eles, destaca-se o ACTN3, o qual codifica a  $\alpha$ -actinina-3, proteína pertencente ao componente estrutural do músculo esquelético e a atividade da ECA (Enzima conversora da angiotensina), que consiste em converter a angiotensina I em angiotensina II, proteína que faz parte do sistema Renina-Angiotensina, importante no controle da pressão arterial. Paralelamente, com os avanços do conhecimento da genética molecular, a redução dos custos e a simplificação dos métodos de genotipagem têm permitido a incorporação dos estudos dos polimorfismos genéticos no auxílio do diagnóstico e no monitoramento dos pacientes obesos <sup>6</sup>.

Assim sendo, o objetivo do presente estudo foi verificar a prevalência de sobrepeso e obesidade e sua possível associação com hábitos alimentares e polimorfismos genéticos I/D do gene da ECA e R577X do gene ACTN3 em escolares que frequentavam do 1º ao 4º ano do ensino fundamental de todas as escolas da zona urbana na cidade de Arroio Grande - RS.

## **2. REVISÃO**

### **2.1 Obesidade**

A obesidade é uma condição nutricional caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal e um dos fatores de risco ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares<sup>7</sup>. Apresenta determinantes genéticos e ambientais envolvidos em sua gênese<sup>8</sup>. Considerada atualmente como um problema de saúde pública tanto na população jovem como na adulta<sup>9</sup>.

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), a obesidade atingiu proporções epidêmicas em todo o mundo, com pelo menos 2,6 milhões de mortes a cada ano como resultado do excesso de peso e de suas intercorrências. Anteriormente, a obesidade era associada a países desenvolvidos, mas atualmente também mostra-se prevalente em países em desenvolvimento, se tornando um problema de saúde pública<sup>10</sup>.

A obesidade pode iniciar em qualquer idade, desencadeada por fatores como o desmame precoce, a introdução inadequada de alimentos, distúrbios do comportamento alimentar e da relação familiar, especialmente nos períodos de aceleração do crescimento <sup>11</sup>.

O sobrepeso e a obesidade na infância são considerados como epidemia, tanto nos países desenvolvidos quanto naqueles que estão em desenvolvimento e atingem meninos e meninas, indistintamente, o que se associa a problemas de saúde mais freqüentes e a custos cada vez mais elevados. A ocorrência da obesidade na infância e na adolescência favorece sua persistência na vida adulta <sup>12</sup>.

### **2.2 Obesidade Infantil**

A obesidade infantil vem se constituindo em um dos principais problemas de saúde pública, considerando as evidências de que proporção significativa das crianças obesas tornam-se também adultos obesos, podendo resultar em formas mais severas da obesidade, acompanhadas de elevadas taxas de morbi-mortalidade e que os efeitos negativos da mesma vêm aumentando na população infantil, especialmente o diabetes mellitus tipo II <sup>13</sup>.

Estudo realizado nos anos 1997 e 1998 com adolescentes na cidade de Pelotas, os quais faziam parte da coorte de crianças nascidas em 1982, evidenciou que uma em seis (16%) das crianças obesas em 1984, e uma em cinco (20%) em 1986 tornaram-se adolescentes obesos<sup>14</sup>.

Dados do Brasil revelam que a prevalência da obesidade entre crianças e adolescentes mais do que triplicou no período entre 1974 e 1997, variando de 4,1% para 13,9%<sup>15</sup>. As pesquisas atuais demonstram frequências ainda superiores, variáveis conforme idade e características da população estudada<sup>2</sup>.

Segundo a Pesquisa de Orçamento Familiar (POF), realizada em 2008 e 2009 pelo IBGE, uma em cada três crianças com idade entre 5 e 9 anos pesa mais do que o recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pelo Ministério da Saúde.

Dados da última POF mostraram que a prevalência de excesso de peso entre meninos de 5-9 anos passou de 10,9% em 1974-75 para 34,8% em 2008-09, enquanto que em meninas passou de 8,6% para 32,0% no mesmo período. A obesidade também aumentou, passando de 2,9% para 16,6% nos meninos e de 1,8% para 11,8% nas meninas. Entretanto o incremento da obesidade não foi similar nas diversas regiões do Brasil, sendo que entre adolescentes as maiores prevalências de obesidade foram observadas no Sul e no Sudeste, 7,7% e 7,4% respectivamente, valores esses duas vezes superiores aos encontrados no Norte e Nordeste do Brasil<sup>2</sup>.

Para as crianças obesas, após os 6 anos de idade, a probabilidade de desenvolverem obesidade na idade adulta é muito maior quando os pais também são obesos, se ambos os pais forem obesos, a criança apresenta 80% de probabilidade de ser obesa; quando um dos pais é obeso, a chance cai para 50%; e quando nenhum dos pais é obeso a chance de a criança desenvolver obesidade é de 9%<sup>16</sup>.

As transformações ocorridas no Brasil, principalmente a partir da década de 50, relacionadas à crescente modernização e urbanização, estão associadas a mudanças no estilo de vida e alimentar da população que passou a incorporar hábitos alimentares típicos de países desenvolvidos, consumindo um maior número de alimentos industrializados, como refrigerantes, embutidos, fast foods e outras guloseimas, em detrimento do consumo de produtos regionais e culturais, como o arroz, feijão, farinhas de mandioca e de milho<sup>17</sup>.

A melhor condição socioeconômica e o estado nutricional materno são apontados como alguns dos fatores associados ao sobrepeso e obesidade<sup>18</sup>. Além



disso, crianças cujas mães apresentam baixa escolaridade, idade inferior a 30 anos, mais de três filhos e que estão desempregadas apresentavam, com frequência, alimentação caracterizada pelo consumo excessivo de alimentos altamente calóricos, pobres em fibras e ricos em gorduras, diretamente relacionados ao excesso de peso

<sup>19</sup>.

Considerando que o aumento da obesidade na infância, tem sido demonstrado em diferentes classes socioeconômicas<sup>20,21</sup>, em diferentes regiões, possivelmente tal fato seja confirmado em escolares da cidade de Arroio Grande.

### **2.3 Fatores genéticos da obesidade**

O aumento da prevalência da obesidade pode ser atribuído às mudanças ambientais ao longo dos últimos 30 anos, devido ao avanço da tecnologia, propiciando um estilo de vida sedentário e maior consumo de alimentos altamente calóricos. A obesidade, é uma condição complexa e de origem multifatorial, resultante da interação entre fatores comportamentais, ambientais e genéticos, que podem influenciar nas respostas individuais à dieta e atividade física. Estudos com diferentes etnias estão sendo realizados, os quais são de extrema importância na identificação e compreensão dos fatores genéticos e ambientais associados com a obesidade<sup>22</sup>.

### **2.4 Polimorfismos genéticos**

Polimorfismos são definidos por variações genéticas que estão presentes na população em uma frequência maior que 1%. Quando estas variações estão presentes em uma frequência menor que 1% na população são chamadas de mutação<sup>23</sup>.

Pesquisas têm sido realizadas em busca da identificação de genes específicos, assim como suas mutações e suas implicações funcionais que possam estar relacionadas à obesidade. Estes genes estão relacionados a diferentes funções como o controle da ingestão, do gasto de energia e do metabolismo da glicose e dos lipídios<sup>24</sup>.

O desenvolvimento da obesidade é um processo complexo que pode ser influenciado pela predisposição genética modificada por fatores ambientais. O problema de sobrepeso e obesidade, incluindo complicações relacionadas, como

hipercolesterolemia, diabetes tipo II e hipertensão, antes predisponente em somente em adultos, têm acometido cada vez mais crianças.

Estudos moleculares têm demonstrado que polimorfismos genéticos podem estar relacionados com o sobrepeso e a obesidade. Para este trabalho foram selecionados os polimorfismos I/D do gene da ECA e R577X do gene ACTN3. A escolha destes polimorfismos é baseada em prévios relatos de influência destes genes na ocorrência de sobrepeso e obesidade.

#### **2.4.1 Polimorfismo I/D do gene da ECA**

Diversos polimorfismos têm sido estudados como predisponentes à obesidade, entre eles, o polimorfismo D/I do gene da ECA que se caracteriza pela presença de um fragmento com cerca de 287pb na variante de inserção (I) e ausência na variante de deleção (D), resultando em três possíveis genótipos: DD, DI e II. Estudos mostraram que este polimorfismo influencia na concentração sérica da ECA, sendo mais elevada em indivíduos que apresentam o genótipo DD e menores em indivíduos que possuem genótipo II. Os indivíduos com genótipo DI apresentam níveis intermediários da ECA<sup>25,26</sup>. A atividade da ECA consiste em converter a angiotensina I (Ang I) em angiotensina II (Ang II), proteína que faz parte do sistema Renina-Angiotensina, importante no controle da pressão arterial (PA). A ação da Ang II está associada à vasoconstrição e ao aumento da PA<sup>27</sup>.

O polimorfismo I/D da ECA tem atraído considerável atenção a respeito de sua associação com a performance física humana. Estudos recentes demonstraram que o alelo I é mais freqüente em atletas de resistência, enquanto que o alelo D, em atletas de força e explosão muscular<sup>28,29</sup>.

#### **2.4.2 Polimorfismo R577X do gene ACTN3**

Em 1999, North e colaboradores identificaram um polimorfismo do tipo nonsense no gene ACTN3 o qual consiste na troca de nucleotídeo C→T na posição 1.747 do éxon 16. Essa mutação resulta em uma conversão do códon para o aminoácido arginina para um stop codon no resíduo 577 (R577X), o que acarreta na forma não-funcional da  $\alpha$ -actinina-336. Indivíduos que possuem ambos os alelos polimórficos (genótipo XX) apresentam ausência total de  $\alpha$ -actinina-3. Já indivíduos heterozigotos (genótipo RX), ou que possuem um alelo funcional (alelo R) e um alelo polimórfico (alelo X), apresentam uma redução na quantidade de  $\alpha$ -actinina-3

sintetizada no músculo-esquelético. Estudos demonstram que aproximadamente 18% da população geral apresentam o genótipo XX<sup>30</sup>. Porém, essa ausência da proteína funcional não resulta em quadro patológico ou qualquer alteração fenotípica evidente, sugerindo que a  $\alpha$ -actinina-2 pode suprir a falta da isoforma -3. Apesar disso, existem evidências de que os diferentes genótipos desse polimorfismo podem influenciar o desempenho de atletas de diferentes modalidades<sup>31</sup>.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

O objetivo do presente estudo foi avaliar os hábitos alimentares e verificar a prevalência de sobrepeso e obesidade e sua possível associação com os polimorfismos I/D do gene da ECA e R577X do gene ACTN3, em escolares do ensino fundamental de todas as escolas da zona urbana na cidade de Arroio Grande - RS.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

Avaliar as variáveis antropométricas, peso e estatura pelo escore z, e verificar a ocorrência de sobrepeso e obesidade entre escolares a partir dos resultados de peso e estatura;

Avaliar hábitos alimentares por meio da aplicação de um Questionário de Frequência Alimentar (QFA);

Verificar possível associação entre sobrepeso e obesidade com as variáveis demográficas, tais como grau de escolaridade e estado nutricional dos pais, bem como renda familiar;

Verificar se há associação entre sobrepeso e obesidade, hábitos alimentares e polimorfismos genéticos I/D do gene da ECA e R577X do gene ACTN3, por meio de DNA extraído de coleta de saliva.

### **4. MÉTODOS**

#### **4.1 Delineamento**

Foi realizado um estudo transversal de base populacional, com escolares de 5 a 10 anos, que frequentavam o 1º ao 4º ano em todas as escolas de ensino fundamental da zona rural da cidade de Arroio Grande – RS. Os escolares foram submetidos na própria escola à avaliação antropométrica e a coleta de saliva, para

posterior extração de DNA, além do preenchimento de questionário sobre hábitos alimentares (APENDICE 2) e estilo de vida que foi enviado aos pais.

## **4.2 Seleção da Amostra**

O presente estudo foi realizado com crianças, de ambos os sexos, com idades entre 5 e 10 anos, matriculadas do 1º ao 4º ano do ensino fundamental, em todas as escolas estaduais, municipais e privadas da zona urbana, da cidade de Arroio Grande – RS. A zona urbana da cidade de Arroio Grande é composta por nove escolas, sendo cinco escolas da rede estadual, três da rede municipal e uma escola da rede privada de ensino.

## **4.3 Critérios de Inclusão**

- a) Crianças matriculadas nas escolas, durante os anos de 2015/2016;
- b) Crianças entre 1º e 4º ano do ensino fundamental e na faixa etária de 5 a 10 anos;
- c) Não houve nenhuma distinção de gênero, classe ou grupo social e cor, sendo que todas as crianças que se enquadraram nos critérios de seleção acima mencionados, foram convidadas a participar.
- d) Todas as crianças que os pais e/ou responsáveis pela criança que entregaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)(Apêndice 1) devidamente assinado, concordando em participar da pesquisa.

## **4.4 Critérios de Exclusão**

- a) Crianças que não preencheram os requisitos acima mencionados ou que não estavam na escola na data da coleta de dados;
- b) Crianças que os pais ou responsáveis não entregaram o TCLE assinado até o momento da coleta de dados;
- c) Crianças que se recusaram a participar por vontade própria.

## **4.5 Coleta de Dados**

A coleta de dados foi realizada em três etapas com os escolares na própria escola, sendo que antes da realização da pesquisa, um dos responsáveis pela pesquisa visitou previamente às escolas em dia e local determinado pela conveniência da escola, para uma reunião com os pais e explicou os objetivos da pesquisa,

esclareceu dúvidas sobre riscos e benefícios e entregou o TCLE, salientando a importância da assinatura para a participação na pesquisa.

1ª ETAPA: Realização da antropometria: realização de medidas de peso e altura dos escolares;

2ª ETAPA: coleta do material genético: com um *swab* bucal foi coletada a saliva da criança, esfregando com o *swab* a parte interna da bochecha da criança;

3ª ETAPA: questionário para avaliar hábitos alimentares: foi encaminhado aos pais e/ou responsáveis.

#### **4.6 Avaliação Antropométrica**

As medidas de peso e altura foram realizadas com os escolares vestidos, permanecendo com a peça de roupa mais leve, descalços e em balança antropométrica com capacidade para 150kg e precisão de 100g, da Marca Filizola e estadiômetro fixo, da Marca Sany.

Para a classificação do estado nutricional das crianças foram adotados os critérios propostos pela World Health Organization <sup>10</sup> que avalia estatura para idade (E/I), peso para idade (P/I) e peso para a estatura (P/E), segundo escore Z. O peso para idade (P/I) relata a relação entre a massa corporal e a idade cronológica, sendo importante para o acompanhamento do ganho de peso, porém não diferencia o comprometimento nutricional da criança. O P/E mostra as dimensões de massa corporal sendo um bom indicador para avaliar o baixo ou excesso de peso da criança e a E/I expressa o crescimento linear da criança. O padrão antropométrico utilizado na identificação do excesso de peso foi o National Center for Health Statistic (NCHS), onde foram considerados os valores acima de +2 escores z para o indicador peso.

#### **4.7 Dados sócio demográficos e QFA**

As informações sobre consumo alimentar foram obtidas por meio de questionário com questões sócio demográficas (Apêndice 2) e QFA (Apêndice 3), nos quais os pais e/ou responsáveis relataram dados sobre a família, como renda, escolaridade, ocupação, entre outros e o consumo e frequência de alimentos e bebidas. O questionário foi composto por questões fechadas e abertas adaptadas do QFA do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional (SISVAN).

#### **4.8 Coleta de material biológico para a extração do DNA genômico**

A extração de DNA foi feita por meio de amostras de esfregaço de mucosa bucal. Num primeiro momento, o paciente foi instruído a beber água para minimizar a presença de outros contaminantes. Em seguida o pesquisador previamente treinado, coletou com um swab estéril, raspou o lado direito da bochecha do voluntário por trinta segundos, guardando-o posteriormente no tubo estéril para a futura extração do DNA. Este procedimento ocorre mais uma vez, apenas trocando a raspagem para o lado direito da bochecha. O conteúdo coletado foi levado no mesmo dia em recipiente adequado ao Laboratório de Nutrigenômica da Faculdade de Nutrição da UFPel para a extração do DNA genômico.

#### **4.9 Extração do DNA genômico**

O swab contendo a saliva e células de descamação do escolar foi colocado em um tubo de 1,5 mL, onde foram adicionados 300µL de solução de NaOH a 50mM, passando assim para incubadora por 10 minutos a 95 °C. Após a incubação, a amostra seguiu para o vortex por 10 segundos. Em seguida foi acrescentado 25 µL de solução de Tris (1 M, pH 8,0) sendo centrifugado a 12.000 g por 5 minutos. Após foram recolhidos 200µL de sobrenadante contendo o DNA do paciente. Um a 5 µL desta amostra foi suficiente para a realização da análise dos polimorfismos pela reação em cadeia da polimerase (PCR) usando iniciadores primers específicos.

##### **4.9.1 Amplificação do DNA:**

A reação de amplificação foi realizada em volume final de 25µl contendo 0,2mmol/L de dNTPs, 2,0mmol/L de MgCl<sub>2</sub>, 0,4µmol/L de cada primer, 1U de Taq DNA polimerase (Invitrogen®) e 100ng de DNA genômico. As amostras foram inicialmente desnaturadas a 95 °C por 5 minutos e, em seguida, submetidas a 40 ciclos de desnaturação a 95 °C por 45 segundos, anelamento a 63 °C por 1 minuto e extensão a 72 °C por 30 segundos seguidos de uma extensão final de 72°C por 30 segundos.

Para confirmação do tamanho do fragmento amplificado, 10µl do produto da PCR foram aplicados em gel de agarose a 1% e submetidos à eletroforese horizontal em tampão de corrida TBE. Como marcador de peso molecular, foi utilizado 100pb DNA Ladder® (Biolabs). A visualização do DNA foi realizada com Syber Safe (Invitrogen) em um transiluminador com luz ultravioleta.

#### 4.9.1.1 Genotipagem da ACTN3:

Foi realizada conforme descrito previamente por Schadock et al. (2015). Foram utilizados quatro primers. As concentrações finais utilizadas foram de 0,5 uM para os primers externos (hACTN3f e hACTN3r) e 0,125 e 0,25 uM de primers internos (hACTN3Tif e hACTN3Cir, respectivamente). Na prática, os primers em 5 uM foram misturados num tubo por adição de 4 volumes de cada primer externo (hACTN3f e hACTN3r), um volume do primer interno sense (hACTN3Tif) e 2 volumes do primer interno anti-sense (hACTN3Cir). Um volume de 5 uL da mistura de primers foi adicionado a 10 uL de 2x GoTaq® Master Mix (PROMEGA, cat. M7122) e 5 uL da amostra de DNA, obtendo-se um volume de reacção de 20 uL.

#### 4.9.1.2 Genotipagem da ECA:

Foi amplificada uma sequência de 490pb (para o alelo I) e 190pb (para o alelo D) do gene da ECA pela reacção em cadeia da polimerase (PCR), através do uso dos primers sense 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3' e anti-sense 5'-GATGTGGCCATCACATTCGTAGA-3'.

### 4.10 Análise estatística

As variáveis contínuas foram expressas em média  $\pm$  desvio padrão (DP). Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, à homocedasticidade pelo teste de Hartley e a independência dos resíduos foi verificada graficamente. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F ( $p \leq 0,05$ ). A associação dos polimorfismos I/D do gene da ECA e ACTN3 com sobrepeso e obesidade foi realizada por meio do teste qui-quadrado. Valores de  $p < 0,05$  são considerados significativos. Foi utilizado o programa estatístico STATA 13®.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, foi investigado o perfil nutricional de 477 crianças e sua associação com polimorfismos genéticos I/D do gene da ECA e R577X do gene ACTN3. Destes escolares, 263 (55,1%) eram do sexo feminino e 214 (44,9%) do sexo masculino, com idade variando entre 5 a 10 anos; a situação socioeconômica das famílias, a frequência de consumo alimentar entre os escolares dentro e fora do âmbito escolar também foi analisada.

Dos responsáveis pelas crianças, 249 (52,2%) responderam ao questionário socioeconômico e de frequência alimentar.

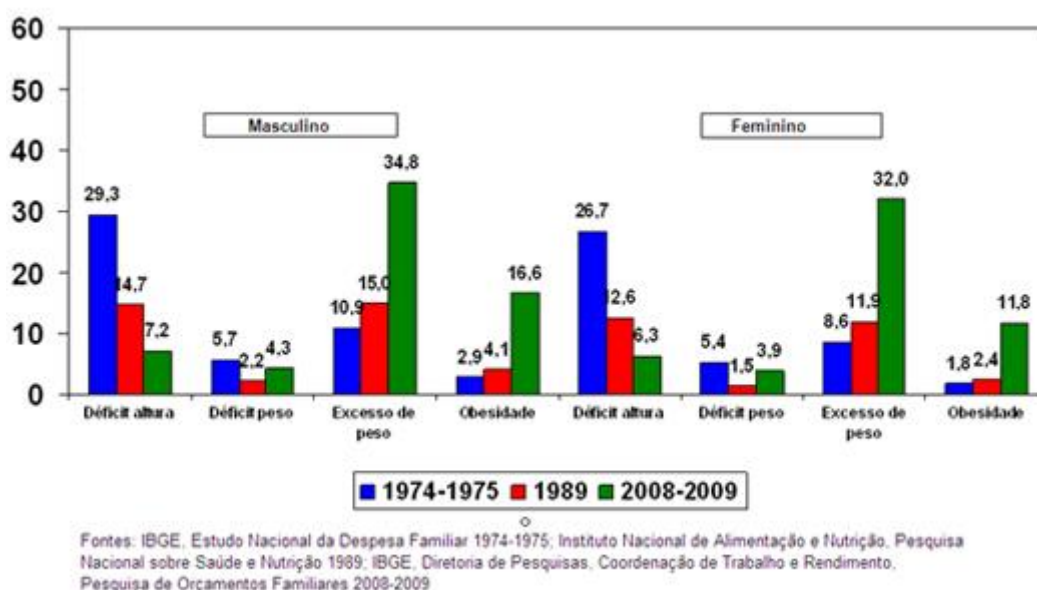
**Tabela 1:** Distribuição de escolares segundo peso, idade, altura e IMC. Arroio Grande, 2016.

	Sexo	Obs	Media DV	min	Max
Peso	F	263	35.34 ± 11.88	17	94.8
	M	214	36.69 ± 11.56	18.6	77.4
Idade	F	277	8.75 ± 1.83	4.28	15.95
	M	232	9.17 ± 7.29	5.1	115.87
Altura	F	263	1.38 ± 0.13	1.12	1.9
	M	214	1.38 ± 0.12	1.11	1.81
IMC	F	263	18.13 ± 3.82	12	35.08
	M	214	18.77 ± 3.90	12.44	31.13

Os resultados apresentados na tabela 2 estão em concordância com os números encontrados à nível nacional. O Brasil, que há 30 anos tentava combater o problema de desnutrição infantil, atualmente enfrenta uma situação aparentemente inversa, conforme pesquisa divulgada pelo IBGE em 2010. Essa pesquisa revelou que uma em cada três crianças de 5 a 9 anos estavam acima do peso em 2009. Segundo o levantamento, o excesso de peso duplicou nos últimos 34 anos e já atinge mais de 33% da população dessa faixa etária, com destaque para as áreas urbanas. O gráfico dessa pesquisa realizada pelo IBGE revela os dados em estatística<sup>2</sup>.



**Gráfico 1:** Evolução de indicadores antropométricos na população de 5 a 9 anos de idade, por sexo – Brasil – períodos 1974-75, 1989 e 2008 – 2009.



**Tabela 2:** Distribuição do estado nutricional dos escolares, segundo sexo. Arroio Grande, 2016.

	F		M	
	Freq	Perc	Freq	Perc
Magreza	0	0	1	0.49
Baixo peso	5	1.95	3	1.48
Eutrófico	154	59.92	112	55.17
Sobrepeso	51	19.84	25	12.32
Obesidade	34	13.23	38	18.72
Obesidade severa	13	5.06	24	11.82
Total	257		203	

A análise dos percentis de IMC/idade revelou 58% (n= 266) de escolares com estado nutricional antropométrico eutrófico. Por outro lado, 40,2% (n=185) dos alunos apresentaram excesso de peso, constatando-se, dentre estes, 8% de obesidade severa, 16% de obesidade e 16% de sobrepeso. Apenas um escolar (0,2%) foi diagnosticado com magreza.

Ao apontar uma prevalência relativamente baixa de magreza e alta prevalência de excesso de peso, os resultados obtidos neste estudo retratam o quadro de transição nutricional brasileira em que coexistem ambos desvios nutricionais.

A tabela 3 apresenta a distribuição do consumo alimentar, segundo o questionário de frequência alimentar, no qual foi relatado o consumo de alguns alimentos.

**Tabela 3:** Comparação entre a frequência alimentar e avaliação nutricional em escolares. Arroio Grande, 2016.

		Nunca	1x sem	2x sem	3x sem	4x sem	5x sem	6x sem	7x sem	Total de obs	pF	pM	ptodos
Feijão	Freq	25	14	11	20	15	5	10	148	148	0,932	0,757	0,925
	Perc	10.08	5.65	4.44	8.06	6.05	2.02	4.03	59.68				
Leite ou iogurte	Freq	27	14	15	13	5	17	14	144	249	0,341	0,991	0,410
	Perc	10.84	5.62	6.02	5.22	2.01	6.83	5.62	57.83				
Batata frita, salgadinhos fritos (coxinha, pastel, etc.)	Freq	56	79	35	31	15	12	4	17	249	0,503	0,467	0,125
	Perc	22.49	31.73	14.06	12.45	6.02	4.82	1.61	6.83				
Hamburguer e embutidos (salsicha, mortadela, salame, preseunto, etc.)	Freq	66	70	43	24	12	12	7	15	249	0,226	0,464	0,508
	Perc	26.51	28.11	17.27	9.64	4.82	4.82	2.81	6.02				
Bolacha/Biscoitos salgado	Freq	34	52	29	32	26	14	12	48	247	0,078	0,517	0,455
	Perc	13.77	21.05	11.74	12.96	10.53	5.67	4.86	19.43				
Bolachas/Biscoitos doce ou recheados, doces, balas e chocolates	Freq	36	70	36	23	25	15	8	36	249	0,743	0,983	0,895
	Perc	14.46	28.11	14.46	9.24	10.04	6.02	3.21	14.46				
Refrigerante (não considerar diet e light)	Freq	47	65	42	32	11	10	9	32	248	0,493	0,799	0,587
	Perc	18.96	26.21	16.94	12.90	4.44	4.03	3.63	12.90				

Salada crua (alface, tomate, cenoura, pepino, repolho, etc.)	Freq	93	47	36	30	8	10	3	22	249	0,318	0,494	0,408
	Perc	37.35	18.88	14.46	12.05	3.21	4.02	1.20	8.84				
Legumes e verduras cozidos (couve, abóbora, brócolis, espinafre, etc.)	Freq	78	48	35	35	13	8	8	24	249	0,013	0,632	0,161
	Perc	31.33	19.28	14.06	14.06	5.22	3.21	3.21	9.64				
Frutas frescas ou salada de frutas	Freq	27	28	26	29	28	25	13	72	248	0,563	0,192	0,758
	Perc	10.89	11.29	10.48	11.69	11.29	10.08	5.24	29.03				

Não houve associação entre renda e o estado nutricional, para meninas  $p=0,220$  e para meninos a associação com a renda mostrou um  $p=0,335$ .

Ocorreu uma tendência ( $p=0,078$ ) de associação do estado nutricional com o consumo de biscoito salgado entre as meninas. E, ainda entre as meninas, as obesas na maioria não comem legumes ou come com uma frequência baixa.

De acordo com os dez passos da alimentação saudável para crianças maiores de 2 anos, a recomendação de ingestão de feijão é de no mínimo 4 vezes na semana. Esta frequência foi atingida pelos escolares nessa pesquisa, visto que 71,8% dos escolares relataram um consumo igual ou superior a 4x/semana.

Ao considerar o consumo de vegetais crus e legumes cozidos, verificou-se uma inadequação, visto que das crianças avaliadas apenas 17,3% ingerem os vegetais crus e os cozidos 21,3% com uma média igual ou maior que 4 vezes por semana, sendo ideal o consumo diário. Quanto à ingestão de frutas, identificou-se um resultado insatisfatório visto que apenas 29% referiu consumir diariamente, que é a recomendação no horário dos lanches e sobremesas.

Analisando a tabela do questionário de frequência alimentar, pode-se observar que apesar da maioria consumir feijão e leite todos os dias da semana, salada crua e legumes cozidos nunca são consumidos pela maior parte dos entrevistados. E apenas 29% consomem frutas 7 dias na semana.

Além disso, enquanto 26,2% relatou beber refrigerante 1x por semana, salada crua e legumes cozidos eram consumidos 1x por semana de 18 a 19%, sendo as porcentagens de nunca terem consumido foram maiores do que refrigerantes.

**Tabela 4:** Distribuição genotípica e equilíbrio de Hardy-Weinberg

Gene	Genótipos	Obs.	Esperados	X <sup>2</sup>	Valor de p	Distribuição alélica
ECA	DD	223	195,8	36,51	< 0,001	D = 68%
	ID	131	185,3			I = 32%
	II	71	43,8			
ACTN3	RR	155	138,7	11,40	< 0,001	R = 59%
	RX	161	193,7			X = 41%
	XX	84	67,7			

Se valor de  $p < 0,05$  – não consistente com equilíbrio de Hardy-Weimberg

Cálculos feitos segundo Michael H. Court (2005-2008)

O equilíbrio de Hardy-Weinberg é o estudo dos genes do ponto de vista de sua distribuição na população, e tem como princípio que na ausência de forças seletivas e outros fatores as frequências gênicas e genotípicas permanecem constantes através das gerações nas diferentes populações<sup>32</sup>.

No modelo de Hardy-Weinberg, as populações na situação de equilíbrio têm suas frequências genotípicas inalteradas através das gerações. Então no equilíbrio as frequências genotípicas podem ser deduzidas a partir das frequências gênicas em cada população<sup>32</sup>.

A tabela 4 mostra a distribuição genotípica e equilíbrio de Hardy-Weinberg, em relação ao polimorfismo da ECA encontrou-se 223 indivíduos DD (52,5%), 131 ID (30,8%) e 71 II (16,70). A prevalência do alelo D foi de 68% e do alelo I foi de 32%. Quanto ao polimorfismo da ACTN3 observou-se 155 indivíduos RR (38,8%), 161 RX (40,25%) e 84 XX (21%).

A prevalência do alelo R foi de 59% e do alelo X foi de 41%, esses dados mostram que há um desequilíbrio nesta população, segundo Hardy-Weinberg, de seleção, mas este estudo não avaliou esta pressão.

A distribuição destas variações na população é de 25% II, 50% ID e 25% DD. Além disso, poderíamos também observar a prevalência de outro polimorfismo que poderia influenciar o desempenho muscular, ou seja, com predomínio de fibras do tipo II (metabolismo anaeróbico)<sup>34</sup>.

Estudou-se então o polimorfismo da ACTN3, sabendo de sua influência sobre as fibras musculares do tipo II. Os indivíduos homozigotos para o alelo 577X (XX) não expressam a  $\alpha$ -actinina 3, no entanto a deficiência desta proteína não resulta num fenótipo patológico<sup>33</sup>. Sabe-se, no entanto, que indivíduos que expressam o gene ACTN3 (genótipos RR ou RX) podem apresentar vantagem em atividades que exigem explosão e força muscular quando comparados com indivíduos com genótipo XX<sup>34</sup>.

A tabela 5 mostra a distribuição do perfil genético considerando a genotipagem dos polimorfismos dos dois genes.

**Tabela 5:** Análise perfil genético (metabolismo glicolítico vs. oxidativo)

Escore	ECA			ACTN3			Obs.	%
	DD	ID	II	RR	RX	XX		
2 Glicolítico	59			59			59	18,7
3 Mixto Glic.	73	42		42	73		115	36,5
4 Mixto	36	34	23	23	34	36	93	29,5
5 Mixto Oxid.		18	19		19	18	37	11,8
6 Oxidativo			11			11	11	3,49

Estudos recentes mostram que o alelo I é mais frequente em atletas de resistência, enquanto que o alelo D em atletas de força e explosão muscular<sup>35</sup>. Desta forma mostra que o alelo I está associado a um metabolismo oxidativo enquanto o alelo D a um metabolismo mais glicolítico<sup>36</sup>. O mesmo ocorre com os alelos R e X da ACTN3<sup>36</sup>.

A tabela 6 mostra uma regressão linear multivariada entre os alimentos citados no QFA, renda e percentil IMC, segundo o sexo, para cada um dos polimorfismos e o perfil genético.

**Tabela 6:** Análises Efeitos-Misturados na Regressão-Linear Multivariada

Gene	ECA						ACTN3						Perfil genético					
Gênero	F		M		T		F		M		T		F		M		T	
	Obs.	P	Obs.	p	Obs.	p	Obs.	P	Obs.	p	Obs.	P	Obs.	p	Obs.	P	Obs.	p
Percentil IMC/idade	197	0,91	161	0,85	358	0,99	209	0,93	172	0,68	381	0,75	161	0,62	138	0,52	299	0,98
Renda	137	0,35	111	0,97	248	0,06	146	0,61	117	0,64	263	0,93	110	0,85	94	0,21	204	0,32
Salada	111	0,29	83	0,53	194	0,82	113	,059	90	0,20	203	*	86	0,60	74	0,11	160	0,36
Legumes	111	0,77	83	0,73	194	0,91	113	0,86	90	0,44	203	0,66	86	0,12	74	0,28	160	0,98
Frutas	111	0,46	83	0,29	194	0,81	113	0,57	90	0,12	203	0,50	86	0,23	74	0,93	160	0,49
Feijão	111	0,48	83	0,92	194	0,71	113	0,65	90	0,75	203	0,87	86	0,70	74	0,89	160	0,88
Leite	111	0,41	83	0,82	194	0,44	113	0,86	90	0,44	203	0,67	86	0,72	74	0,56	160	0,49
Batatinha/salgadinho	111	0,68	83	0,30	194	0,32	113	*	90	**	203	***	86	0,16	74	0,30	160	0,08
Embutidos.	111	0,80	83	0,77	194	0,75	113	0,82	90	0,29	203	0,61	86	0,77	74	0,26	160	0,53
Biscoito sal.	111	0,51	83	0,18	194	0,58	113	0,72	90	0,69	203	0,96	86	0,90	74	0,75	160	0,76
Biscoito doce	111	0,35	83	0,68	194	0,43	113	0,38	90	*	203	*	86	0,72	74	0,08	160	0,35
Refrigerante	111	0,88	83	0,37	194	0,52	113	0,95	90	0,09	203	0,27	86	0,96	74	0,29	160	0,45

\*, p = 0,05; \*\*, p = 0,01; \*\*\*, p = 0,001

F = feminino, M = masculino e T= todos

Não houve associação entre a avaliação nutricional e os polimorfismos estudados, nem mesmo analisando isoladamente o gene da ECA nem do Actn3, fato este que pode ter ocorrido devido ao desequilíbrio encontrado na população. Também não houve associação com o perfil genético estudado e a avaliação nutricional nesta amostra.

Na tabela 7 foi feita análise avaliando a frequência de cada dado. Esta nova análise apresenta o teste qui-quadrado, e mostra que não houve relação entre a avaliação nutricional e o perfil genético.

**Tabela 7: Análises qui-quadrado com dados categorizados**

Gene	ECA						ACTN3						Perfil genético					
Gênero	F		M		T		F		M		T		F		M		T	
	Obs.	P	Obs.	p	Obs.	P	Obs.	P	Obs.	p	Obs.	P	Obs.	p	Obs.	P	Obs.	p
Percentil IMC/idade	197	0,91	161	0,24	358	0,67	209	0,32	172	0,82	381	0,87	161	0,34	138	0,63	299	0,61
Renda	137	*	111	0,38	248	0,09	146	0,61	117	0,98	263	0,85	110	0,64	94	0,85	204	0,56
	111	0,72	83	0,81	194	0,89	113	0,48	90	0,47	203	0,28	86	0,58	74	0,56	160	0,54
Legumes	111	0,99	83	0,50	194	0,99	113	0,23	90	0,47	203	0,14	86	0,75	74	0,51	160	0,92
Frutas	111	0,47	83	0,30	194	0,40	113	0,95	90	0,60	203	0,90	86	0,06	74	0,49	160	*
Feijão	111	0,59	83	0,81	194	0,66	113	0,61	90	0,60	203	0,99	86	0,29	74	0,99	160	0,50
Leite	111	0,69	83	0,84	194	0,89	113	0,93	90	0,09	203	0,50	86	0,86	74	0,79	160	0,91
Batatinha/salgadinho	111	0,28	83	0,12	194	0,55	113	0,38	90	0,36	203	*	86	0,93	74	0,12	160	0,30
Embutidos.	111	0,96	83	0,92	194	0,79	113	0,90	90	0,13	203	0,31	86	0,45	74	0,08	160	0,11
Biscoito sal.	111	0,63	83	0,17	194	0,52	113	0,22	90	0,75	203	0,17	86	0,86	74	0,11	160	0,59
Biscoito doce	111	0,19	83	0,42	194	0,26	113	0,90	90	0,19	203	0,42	86	0,30	74	,056	160	0,65
Refrigerante	111	0,49	83	0,23	194	0,89	113	0,40	90	0,29	203	0,34	86	0,64	74	0,23	160	0,94

\*, p = 0,05; F = feminino, M = masculino e T= todos

Parece haver uma associação entre o consumo de frutas e o perfil genético, o que pode ser uma coincidência. Ainda observou-se que uma associação entre renda e o perfil genético para o gene da ECA.

Nesta nova análise, a batatinha/salgadinhos continuou tendo relação com o gene da actn3, o que não apareceu quando analisada em sexos separados, mas apareceu quando os sexos foram unificados, para todos. Não se sabe explicar essa associação.

## 7. CONCLUSÃO

Obesidade e sobrepeso foram identificados em proporção relevante, o que torna necessária a implementação de medidas de orientação nutricional no ambiente escolar, a fim de melhorar a qualidade de vida dos escolares avaliados. Não foi encontrada associação dos polimorfismos genéticos estudados e a avaliação nutricional dos escolares estudados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- KUH, D. Y.; BEN-SHLOMO. **A life course approach to chronic disease epidemiology**. Oxford University Press, USA. 2004.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Estudo Nacional da Despesa familiar 1974-9175**; Instituto nacional de Alimentação e nutrição, Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. BRASIL, 2010.
- DUTRA, Carmem L.; ARAUJO, Cora L. and BERTOLDI, Andréa D.. **Prevalência de sobrepeso em adolescentes: um estudo de base populacional em uma cidade no Sul do Brasil**. Cad. Saúde Pública [online]. 2006, vol.22, n.1, pp.151-162. ISSN 1678-4464.
- LEÃO, L. S. C. et al. **Prevalência de Obesidade em escolares de Salvador-Bahia**. Arq Bras Endocrinol Metab, v. 47, n. 2, p.151-157, 2003.
- DAMIANI, D.; DAMIANI, D.; OLIVEIRA, R. G. **Obesidade - Fatores genéticos ou ambientais?** Pediatria Moderna, v. 38, n. 3, p. 57- 80, 2000.
- ROLA, M. G., FERREIRA, L. B. **Polimorfismos genéticos associados à hipertensão arterial sistêmica**. Univ. Ci. Saúde, v. 6, n. 1, p. 57-68, 2008.
- RUBENSTEIN, A. H. **Obesity: a modern epidemic**. Transactions of the American Clinical and Climatological Association, v. 116, p. 103-113, 2005.
- JORGENSEN JP, et al. (2006) **Adrm1, a putative cell adhesion regulating protein, is a novel proteasome-associated factor**. J Mol Biol 360(5):1043-52
- GIUGLIANO, R.; CARNEIRO, E. C. **Fatores associados à obesidade em escolares**. Jornal de Pediatria, v.80, n.1, p.17-22, 2004.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Geneva: World Health Organization; 1998.
- FISBERG M. Obesidade na infância e adolescência. In: Fisberg M. editor. **Obesidade na infância e adolescência**. São Paulo - SP: Fundo Editorial BYK; 1995. p. 9-13.
- RIBEIRO, A. J. P. et al. **Prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares com idade de 7 a 17 anos, residentes nos municípios pertencentes à secretaria de desenvolvimento regional de São Miguel do Oeste/SC**. Revista da Faculdade de Educação Física da UNICAMP, v. 11, n. 1, p. 57-73, 2013.
- NSW Centre for Public Health Nutrition. **Best options for promoting healthy weight and preventing weight gain in NSW**. New South Wales: University of Sidney; 2005.
- MONTEIRO, P. O. A.; VICTORA, C. G.; BARROS, F. C.; MONTEIRO, L. M. A. **Birth size, early childhood growth, and adolescent obesity in a Brazilian birth cohort**. Int J Obes Relat Metab Disord, 2003.
- WANG Y. et al. **Trends of obesity and underweight in older children and adolescents in the United States, Brazil, China, and Russia**. Am J Clin Nutr, v. 75, n. 6, p. 971- 7, 2002.
- PANAZZOLO, P. R.; FINIMUNDI, H. C.; STOFFEL, M. O. S.; SIMON, R. A.; LIMA, M. C.; COSTANZI, C. B. **Prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares do município de Feliz, Rio Grande do Sul, Brasil**. Rev Bras Med Fam Comunidade, v. 9, n. 31, p. 142-8, 2014.
- BLEIT S. I. **O Padrão Alimentar Ocidental: considerações sobre a mudança de hábitos no Brasil**. Cadernos de Debate. UNICAMP, 2008.
- NOVAES, J. F.; LAMOUNIER, J. A.; FRANCESCHINI, S. C. C. et al. **Fatores ambientais associados ao sobrepeso**. Rev Nutr, v. 22, n. 5, p. 661-73, 2009.
- VERECKEN, C.; MAES, L. **Young children's dietary habits and associations with the mothers' nutritional knowledge and attitudes**. Appetite, v.54, n.1, p.44-51, 2009.
- COSTA, R. F.; CINTRA, I. P.; FISBERG, M. **Prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares da cidade de Santos, SP**. Arq Bras Endocrinol Metab, v. 50, n. 1, p. 60-67, 2006.
- GARCIA, F. D.; TERRA, A. F.; QUEIROZ, A. M.; CORREIA, C. A.; RAMOS, O. S.; FERREIRA, Q. T.; ROCHA, R. L.; OLIVEIRA, E. A. **Avaliação de fatores de risco associados com elevação da pressão arterial em crianças**. J Pediatr, v. 80, n. 1, p.29-34, 2004.
- ZHAO, J.; GRANT, S. F. A. **Genetics of Childhood Obesity**. Journal of Obesity, p.1-9, 2011.
- SCHAFER, A.; HAWKINS, J. R. DNA variation and the future of human genetics. Nature Biotechnology, v. 16, p.33-39, 1998.
- ANGELI, C. B. **Susceptibilidade genética e outros fatores de risco associados ao sobrepeso e à obesidade em populações afrodescendentes do Vale do Ribeira**. 2008. 206 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- LIMA, S. G.; HATAGIMA, A.; SILVA, N. L. C. L. **Sistema Renina-Angiotensina: é possível Identificar genes de suscetibilidade à hipertensão?**. Arq Bras Cardiol, p. 0427 – 0433, 2007.
- HIGASHIMORI, K.; ZHAO, Y.; HIGAKI, J.; KAMITANI, A.; KATSUYA, T.; NAKURA, J.; MIKI, T.; MIKAMI, H.; OGIHARA, T. **Association analysis of a polymorphism of the angiotensin converting**



**enzyme gene with essential hypertension in Japanese population.** Biochem Biophys Res Commun, v. 191, p. 399-404, 1993.

SILVA, P. A. L. et al. **Determinação do polimorfismo D/I do gene da enzima conversora de angiotensina em indivíduos com e sem síndrome metabólica – estudo piloto.** (2011).

MYERSON S, HEMINGWAY, H.; BUDGET, R.; MARTIN, J.; HUMPHRIES, S.; MONTGOMERY H. **Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance.** J Appl Physiol, v. 87, p.1313-6, 1999.

HAGBERG, J. M.; FERRELL, R. E.; MCCOLE, S. D.; WILUND, K. R.; MOORE, G. E. **VO<sub>2</sub> max is associated with ACE genotype in postmenopausal women.** J Appl Physiol, v. 85, p.1842-6, 1998.

MILLS, M.; YANG, N.; WEINBERGER, R.; VANDER, W. D. L.; BEGGS, A. H.; EASTEAL, S. et al. **Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy.** Hum Mol Genet, v. 1, n. 13, p.1335-46, 2011.

RUIZ, J. R.; GOMEZ-GALLEGO, F.; SANTIAGO, C.; GONZALEZ-FREIRE, M.; VERDE, Z.; FOSTER, C. et al. **Is There An Optimum Endurance Polygenic Profile?** J Physiol, v. 587, n. 7, p.1527-34, 2009.

SANTOS, F. R. S237f Fascículo – evolução / Fabrício R Santos e Cayo Dias. – Belo Horizonte : CAED-UFMG, 2013.

NORTH KN, Yang N, Wattanasirichaigoon D, Mills M, Easteal S, Beggs AH. **A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population.** Nat Genet. 1999;21(4):353-4

WAJCHENBERG, Marcelo et al. **Polimorfismo do gene da eca e da  $\alpha$ -actinina 3 na escoliose idiopática do adolescente.** Acta ortop. bras. [online]. 2013, vol.21, n.3, pp.170-174. ISSN 1413-7852. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-78522013000300009>.

Almeida SS, Barros CC, Moraes MR, Russo FJ, Haro AS, Rosa TS, et al. **Plasma Kallikrein and Angiotensin I-converting enzyme N- and C-terminal domain activities are modulated by the insertion/deletion polymorphism.** Neuropeptides. 2010;44(2):139-43.

DIAS, Rodrigo Gonçalves; PEREIRA, Alexandre da Costa; NEGRAO, Carlos Eduardo and KRIEGER, José Eduardo. **Polimorfismos genéticos determinantes da performance física em atletas de elite.** Rev Bras Med Esporte [online]. 2007, vol.13, n.3, pp.209-216. ISSN 1517-8692. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-86922007000300016>.

## APÊNDICE 1: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Pesquisador responsável:** Carlos Castilhos de Barros **Instituição:** Universidade Federal de Pelotas

**Endereço:** Rua Gomes Carneiro, nº 1. Centro. Pelotas – RS **Telefone:** (53) 81057652 / (53) 39211309

Concordo que meu (minha) filho (a) participe do estudo “**Prevalência de sobrepeso e obesidade e sua associação com polimorfismos em escolares**”, que tem como objetivo verificar a prevalência de sobrepeso e obesidade e sua possível associação com os polimorfismos I/D do gene da ECA e R577X do gene ACTN3, em escolares do ensino fundamental, na cidade de Arroio Grande - RS.

A análise dos polimorfismos será realizada pela extração de DNA da saliva dos pacientes e, serão aferidos peso e altura das crianças, na própria escola. Além disso, será enviado aos Senhores Pais ou responsáveis um questionário de frequência alimentar, a fim de investigar o consumo alimentar dessas crianças. Fui informado que a justificativa desse estudo é devido à falta de dados sobre o desenvolvimento da obesidade em escolares da nossa região, tornando-se importante o diagnóstico precoce do sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes, para que apenas com o tratamento dietético e cuidados de alimentação possam ter uma vida com mais qualidade, prevenindo problemas de saúde futuros. Para isso meu filho precisará coletar saliva, enxaguando a boca antes com água tratada e esfregando o swab várias vezes entre as duas bochechas, para a coleta de DNA. Fui informado que não existem riscos no estudo e o benefício de participar na pesquisa é o fato que os resultados serão incorporados ao conhecimento científico e posteriormente a situações de ensino-aprendizagem, além de contribuir para uma maior divulgação da importância do controle da obesidade em crianças e adolescentes. Como já me foi dito, a minha participação e de meu (minha) filho (a) neste estudo será voluntária e poderei interrompê-la a qualquer momento, que os resultados serão usados somente para fins de pesquisa, sendo que as nossas identidades permanecerão confidenciais durante todas as etapas do estudo.

**CONSENTIMENTO:** Recebi claras explicações sobre o estudo, todas registradas neste formulário de consentimento. Os investigadores do estudo responderam e responderão, em qualquer etapa do estudo, a todas as minhas perguntas, até a minha completa satisfação. Portanto, estou de acordo que meu (minha) filho (a) participe do estudo. Este Formulário de Consentimento Pré-Informado será assinado por mim e arquivado na instituição responsável pela pesquisa.

Nome da criança: \_\_\_\_\_ Representante Legal: \_\_\_\_\_

Vínculo Familiar ou Legal do representante: \_\_\_\_\_

Identidade: \_\_\_\_\_

ASSINATURA: \_\_\_\_\_ DATA: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE DO INVESTIGADOR:** Expliquei a natureza, objetivos, riscos e benefícios deste estudo. Coloquei-me à disposição para perguntas e as respondi em sua totalidade. O participante compreendeu minha explicação e aceitou, sem imposições, assinar este consentimento. Tenho como compromisso utilizar os dados e o material coletado para a publicação de relatórios e artigos científicos referentes a essa pesquisa.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Carlos Castilhos de Barros. Faculdade de Nutrição. Campus Porto. Rua Gomes Carneiro, nº 1. Contatos: (53) 8105.7652 ou 3921. 1309. [barroscpel@gmail.com](mailto:barroscpel@gmail.com)

ASSINATURA PESQUISADOR RESPONSÁVEL: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UFPel. (53) 3921.1401.

## APÊNDICE 2

QUESTIONÁRIO DE DADOS SÓCIO-DEMOGRÁFICOS	
Nome da pessoa que respondeu o questionário: _____ Data da entrevista ____/____/____	
Nome da Criança: _____ Telefone para contato: _____	
DADOS SÓCIO-DEMOGRÁFICOS DA FAMÍLIA E/OU RESPONSÁVEL	Não responder
Marque um X nas respostas abaixo:	abaixo
1. Questionário respondido por: <b>(1)</b> Pai <b>(2)</b> Mãe <b>(3)</b> Irmão <b>(4)</b> Outro, quem? _____	__ __
2. Quem são os encarregados da educação da criança? <b>(1)</b> Pai <b>(2)</b> Mãe <b>(3)</b> Avô <b>(4)</b> Tio <b>(5)</b> Pai e Mãe <b>(6)</b> Madrasta <b>(7)</b> Padrasto <b>(8)</b> Avó <b>(10)</b> Outro? Quem? _____	Edcri __ __
3. Qual é a idade dos pais ou responsáveis? Pai: _____ anos Mãe: _____ anos Responsável: _____ anos	Idade1 __ __ Idade2 __ __
4. Qual é a escolaridade da mãe da criança? <b>(1)</b> Analfabeto <b>(4)</b> Ensino médio completo <b>(2)</b> Fundamental até o 5º ano <b>(5)</b> Ensino superior completo <b>(3)</b> Fundamental completo <b>(6)</b> Pós-graduação	Escol1 __ __ Escol2 __ __
5. Qual é a escolaridade do pai da criança? <b>(1)</b> Analfabeto <b>(4)</b> Ensino médio completo <b>(2)</b> Fundamental até o 5º ano <b>(5)</b> Ensino superior completo <b>(3)</b> Fundamental completo <b>(6)</b> Pós-graduação	Escol1 __ __ Escol2 __ __
6. Qual a condição empregatícia da mãe ou responsável pela criança? <b>(1)</b> Empregada <b>(2)</b> Profissional liberal <b>(3)</b> Desempregada <b>(4)</b> Emprego temporário <b>(5)</b> Dona de casa	OcupM: __ __
7. Quantas pessoas moram na casa? _____	Nump ____
8. Qual a renda familiar? <b>(1)</b> Até R\$724,00 <b>(4)</b> Entre R\$3.620,00 e R\$5.792,00 (entre 5 e 8 sal.) <b>(2)</b> Entre R\$724,00 e R\$1.448,00 (entre 1 e 2 salários mín) <b>(5)</b> > R\$5.792,00 (> 8 salários mínimos) <b>(3)</b> Entre R\$1448,00 e R\$2.896,00 (entre 2 e 4 salários mín)	Renda __ __
9. Os responsáveis pela criança praticam atividade física? <b>(1)</b> Sim <b>(2)</b> Não	Ativfi __ __
10. Peso dos responsáveis: Pai: _____ Mãe: _____ ou outro responsável: _____	Pp1: __ __ __ Pm2: __ __ __
11. Altura dos responsáveis:	Ap1: __ __ __

Pai: _____ Mãe: _____ ou outro responsável: _____	Am2: ____
12. Existe casos de sobrepeso e obesidade na família? (1) Sim (2) Não (3) Não sei	Obfam: ____
<b>DADOS SOBRE A CRIANÇA</b>	
13. Data nascimento ____/____/____	
14. Sexo (1) Masculino (2) Feminino	Sexo ____
15. Escolaridade da criança: (1) Pré-escolar (de 1 a 6 anos) (2) Escolar (de 7 a 10 anos)	Escri ____
16. A criança pratica atividade física? (1) Sim (2) Não Qual? _____	Atfis ____
17. Qual a frequência semanal de atividade física? (1) 1 x (2) 2 x (3) 3 x (4) 4 x (5) 5 x (6) 6 x (7) todos os dias	Fativfis ____
18. A criança possui alguma patologia? (1) Sim Qual: _____ (2) Não	Patol ____
19. Qual o número de refeições que a criança faz por dia? _____	
20. O que a criança costuma beber junto às refeições? (1) Água (2) Suco natural (3) Suco industrializado (caixa) (4) Suco industrializado (pó) (5) Refrigerante light/zero (6) Refrigerante normal (7) Não bebe nada (8) Outro? Qual? _____	Cosbe ____
21. A criança apresenta dificuldade para comer? (1) Sim (2) Não	Difcom: ____
22. Se sim, quais são as dificuldades para comer? _____	
23. A criança costuma adicionar sal a comida? (1) Sim (2) Não	Sal ____
24. A criança assiste TV ou usa videogame, tablets e computadores enquanto come? (1) Sim (2) Não	ComeTv: ____
25. Quantas horas por dia a criança assiste TV ou usa videogame, tablets e computadores? (1) até 1 hora (2) até 2 horas (3) de 2 a 4 horas (4) de 4 a 6 horas (5) mais de 6 horas	HorasTV: ____
26. Qual o local de realização das refeições? (1) mesa (2) sofá (3) quarto (4) restaurante (5) outros: Quais? _____	LocalRef: ____
27. Quais são os 3 alimentos preferidos da criança?	
28. Quais são os 3 alimentos rejeitados pela criança?	
29. Você acha saudável a alimentação da criança? (1) Sim (2) Não (3) Mais ou menos	Alimsaud: ____
30. A criança come a merenda oferecida pela escola? (1) Sim (2) Não (3) Às vezes (4) Não é oferecida merenda	ComMer: ____
31. A criança leva merenda de casa? (1) Sim (2) Não (3) Às vezes Qual? _____	LevaMer: ____

## QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR SEMANAL

ASSINALE COM X QUANTAS VEZES A CRIANÇA COSTUMA CONSUMIR HABITUALMENTE OS ALIMENTOS ABAIXO.  
LEMBRE-SE DE QUE ESTA QUANTIDADE REPRESENTA SEU CONSUMO MÉDIO NOS ÚLTIMOS 7 DIAS.

Alimentos/Bebidas	Nunca nos últimos 7 dias	1 dia nos últimos 7 dias	2 dias nos últimos 7 dias	3 dias nos últimos 7 dias	4 dias nos últimos 7 dias	5 dias nos últimos 7 dias	6 dias nos últimos 7 dias	Todos os 7 últimos dias
Salada crua (alface, tomate, cenoura, pepino, repolho, etc.)								
Legumes e verduras cozidos (abóbora, brócolis, vagem, chuchu, couve, cenoura, etc)								
Frutas frescas ou salada de frutas								
Feijão								
Leite e iogurte								
Batata frita, batata de pacote, salgadinhos fritos (coxinha, quibe, pastel)								
Hamburguer e embutidos (salsicha, mortadela, salame, presunto, lingüiça, etc)								
Bolachas/biscoitos salgados ou salgadinhos de pacote								
Bolachas/biscoitos doces ou recheados, doces, bolos, balas e								

chocolates (em barra ou bombom)								
Refrigerante (não considerar os diet ou light)								
Outros não mencionados:								